AUSGEFÜHRT UNTER LEITUNG VON PROF. DR. E. ROTHLIN, BASEL.

Experimenteller Beitrag zur Wirkungsweise vegetativer Pharmaka

INAUGURAL DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT VON

IRENE BRÜGGER

AUS CHURWALDEN (GRAUBÜNDEN)

IMPRIMERIE SAINTE CATHERINE

51, Tempelhof, BRUGES (BELGIQUE)

— 1938 —

Von der Medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. E. ROTHLIN, 15-12-1937.

Sonderabdruck aus « Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, »
Vol. 59, 1938.

AUSGEFÜHRT UNTER LEITUNG VON PROF. DR. E. ROTHLIN, BASEL.

Experimenteller Beitrag zur Wirkungsweise vegetativer Pharmaka

INAUGURAL DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT VON

IRENE BRÜGGER

AUS CHURWALDEN (GRAUBÜNDEN)

IMPRIMERIE SAINTE CATHERINE

51, Tempelhof, BRUGES (BELGIQUE)

— 1938 —

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Harnack und Witkowsky (1) zeigten schon 1876, dass die elektrische Erregbarkeit sowohl an glatter als an quergestreifter Muskulatur durch Physostigmin gesteigert wird. 1917 beschrieb Führer (2) die sensibilisierende Wirkung des Physostigmin für Acetylcholin am Blutegelrückenmuskel. Dale (3) hatte schon 1914 vermutet, dass die Flüchtigkeit der Acetylcholin-Wirkung durch eine im Organismus vorkommende Esterase bedingt ist. Loewi und Navratil (4) konnten dann zeigen, dass diese Acetylcholin-Sensibilisierung auf der Hemmung der Cholinesterase durch Physostigmin beruht; sie haben damit dem Mechanismus der Physostigmin-Wirkung eine neuartige Erklärung gegeben; dieselbe beruht darnach nicht auf einer direkten, sondern auf einer indirekten Wirkung über die Cholinesterasehemmung. Physostigmin bewirkt eine Acetylcholin-Sensibilisierung in Dosen, die unterhalb des Schwellenwertes einer manifesten Physostigmin-Wirkung liegen. Nach Engelhart und Loewi (5) ist die Hemmung der Cholinesterase durch Physostigmin spezifisch. Die physiologische Bedeutung dieser Physostigmin-Wirkung liegt darin, dass sie nicht nur für das Acetylcholin, sondern auch für den von Loewi (6) zum ersten Mal nachgewiesenen Vagusstoff gilt, welcher nach dem heutigen Stande der Forschung mit Acetylcholin identisch zu sein scheint.

Loewi und Navratil (4) wiesen ferner für das *Ergotamin* eine analoge Hemmung der Cholinesterase bzw. Acetylcholin-Sensibilisierung nach. Die von Rothlin (7) 1923 erstmals beschriebene Sensibilisierung der Vagusreizung bzw. Acetylcholin-Wirkung am Herzen der Katze durch Ergotamin scheint durch diese Untersuchungen eine plausible Erklärung zu finden. Ergotamin hat aber andererseits ausgesprochen hemmende Wirkung auf sympathische Funktionen, welche nicht im

Einklang steht mit der parasympathischen Wirkung der Cholinesterase-Hemmung bzw. Acetylcholin-Sensibilisierung. Es erschien daher interessant, die Frage des Ergotamin-Wirkungsmechanimus einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen. Zu diesem Zwecke wurde in einer ersten Versuchsreihe der Einfluss von Ergotamin auf die Acetylcholinwirkung an verschiedenen isolierten Testorganen geprüft. Physostigmin, Pilocarpin und Ergobasin (Ergometrin) wurden in die Untersuchung mit einbezogen. In einer zweiten Versuchsreihe wurde die esterasehemmende Wirkung von Ergotamin und Ergobasin mit jener von Physostigmin in vitro verglichen.

Methodik

Als Testorgane wurden der isolierte Uterus des Kaninchens und die isolierte Samenblase des Meerschweinchens verwendet. Ueber die neuro-vegetative Innervation dieser Organe bestehen Meinungsverschiedenheiten, nach L. R. Müller (8) sind beide sowohl sympathisch als parasympathisch innerviert. Der Reaktionserfolg der Nervenreizung wird in der Literatur nicht einheitlich angegeben. Sicher ist hingegen, dass beide Erfolgsorgane sowohl durch Adrenalin als durch Acetylcholin zur Kontraktion angeregt werden. Der Kaninchen-Uterus ist auf Adrenalin empfindlicher als die Samenblase des Meerschweinchens; gegenüber Acetylcholin hingegen besteht ein gegensätzliches Verhalten. Die Samenblase hat praktisch keinen Eigenrhythmus und eignet sich deshalb besonders gut für quantitative Versuche. Am Kaninchen-Uterus sind die Resultate wegen des Eigenrhythmus und der wechselnden Empfindlichkeit zufolge der hormonalen, schwer kontrollierbaren Reaktionsbereitschaft oft variabel. Um die Erregbarkeit der Organe zu steigern und gleichmässiger zu gestalten, wurden die Tiere 1-2 Tage vor dem Versuch auf Hafer gesetzt. Von der Samenblase wurden nur die zentralen Stücke verwendet, da die peripheren Anteile wesentlich weniger empfindlich sind und rascher ermüden. Vom Kaninchen-Uterus wurden stets zwei angrenzende Stückeo der wenn ein entsprechend dickes Stück vorlag die zwei Hälften desselben Stückes miteinander verglichen.

Die Technik war im Prinzip jene nach Magnus-Kehrer. Als Nährlösung wurde die von Fleisch (9) angegebene Lösung verwendet. Vor Beginn des Versuchs verblieben die Organe zur Stabilisierung des Tonus und Gewöhnung an das Milieu bei geeigneter Belastung mindestens 30 Min. im Thermostat unter ständiger O_2-Zufuhr. Erst

nach dieser Zeit wiesen die Organe ihre optimale Erregbarkeit auf. Die untersuchten Pharmaka wurden zur besseren Verteilung mit einer geeigneten Tuberkulinspritze zugesetzt. Die Apparatur erlaubt das Auswaschen der Organe ohne dass dieselben mechanisch erregt werden oder mit Luft (Abkühlung) in Berührung kommen. Das Intervall zwischen zwei chemischen Reizapplikationen soll bei der Samenblase, welche träger reagiert als der Kaninchen-Uterus, 30-40 Min. betragen, beim Kaninchen-Uterus genügen 20 Minuten.

Zu Beginn der Versuche wurde stets zuerst an beiden Testorganen der Schwellenwert des Acetylcholin bestimmt und 2-3mal bis zur Konstanz eines minimalen Acetylcholin-Kontraktionseffektes wiederholt. Sodann ausgewaschen und dem einen Testorgan das auf eine eventuelle Sensibilisierung zu prüfende Pharmakon zugesetzt. 20-30 Min. später wurde dann wieder an beiden Testorganen dieselbe Grenzkonzentration Acetylcholin geprüft und auf eine eventuell auftretende Sensibilisierung untersucht. Mit nachfolgenden Acetylcholinzusätzen wurde die Dauer der Sensibilisierung bestimmt.

Experimentelle Resultate

1. — *Versuche über die Beeinflussung der Acetylcholin-Wirkung durch Ergotamin und Ergobasin (Ergometrin)*

a) *Versuche am Kaninchen-Uterus.* Die Empfindlichkeit gegenüber Acetylcholin der einzelnen Testorgane von 6 verschiedenen Tieren schwankte relativ stark. Die mittlere Empfindlichkeit für Acetylcholin lag bei 1 : 10.000.000; das empfindlichste Organ reagierte bei einer Acetylcholinkonzentration von 1 : 50.000.000 Da Ergotamin und Ergobasin stark uteruswirksame, insbesondere tonus- und rythmusfördernde Pharmaka sind, kamen für klare Sensibilisierungsversuche nur kleine, nicht oder nur wenig manifest wirksame Dosen in Anwendung. Ergotamin erwies sich in meinen Versuchen in schwächeren Dosen uteruswirksam als Ergobasin. Mit Ergotamin und Ergobasin wurden im ganzen je 25 Sensibilisierungsversuche durchgeführt. Mit beiden Mutterkornalkaloiden war im Konzentrationsbereich von 1 : 10 bis 100.000.000, also in Dosen, welche nicht oder nur sehr schwach manifest wirksam waren, eine Sensibilisierung nachweisbar. Dabei war aber auffallend, dass sich die einzelnen Uteri sehr schwankend verhielten, während bei dem einen die Sensibilisierung sehr eklatant auftrat, war sie bei anderen Uteri mit nicht manifest wirksamen Dosen nicht vorhanden. War ein Organ durch

Ergotamin oder Ergobasin in kleinen Dosen sensibilisierbar, so zeigte sich, dass der Sensibilisierungseffekt mit Erhöhung der Dosis gesteigert werden konnte. Der Sensibilisierungsgrad betrug 30-350 %. Dabei wurde die Kontraktionsform des Acetylcholin durch die sensibilisierenden Alkaloide Ergotamin und Ergobasin nicht verändert.

Zwischen Ergotamin und Ergobasin bestehen aber Unterschiede. Nach Ergobasin war der Sensibilisierungseffekt viel unregelmässiger als nach Ergotamin. Ferner kam es vor, dass Ergobasin praktisch kaum Acetylcholin sensibilisierend wirkte, während an demselben Uterus dieselbe Konzentration von Ergotamin stark wirksam war. Sehr deutlich war ferner das verschiedene Verhalten in Hinsicht der Dauer der Sensibilisierung für Acetylcholin. Während dieselbe bei Ergotamin trotz wiederholtem Auswaschen in der Regel bis zu 100 und mehr Minuten anhielt war sie nach Ergobasin teils nach 20-30 Min., teils nach 60 und mehr Minuten nicht mehr nachweisbar.

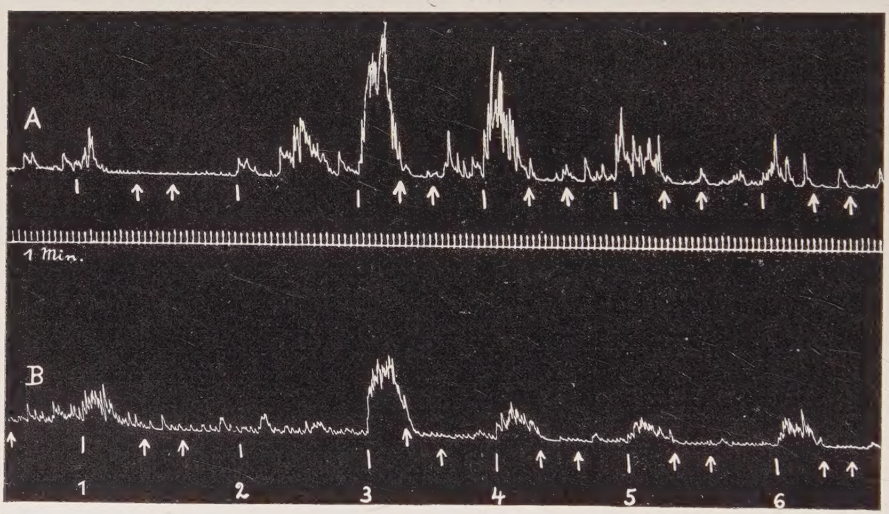

ABB. 1

Versuch am isol. Kaninchen-Uterus.

1 A, B } Acetylcholin 1 : 50.000.000.
2 A Ergotamin 1 : 30.000.000.
B Ergobasin 1 : 30.000.000.
3-6 Acetylcholin 1 : 50.000.000.

In der ABB. 1 ist ein charakteristisches Beispiel für die Wirkungsweise von Ergotamin und Ergobasin wiedergegeben. Die Organe A und B erweisen sich als sehr empfindlich. Die Acetylcholin-Grenz-

konzentration (bei 1) beträgt 1 : 50.000.000. Bei 2 wird zu Organ A Ergotamin und zu Organ B Ergobasin 1 : 30.000.000 zugesetzt. Organ A zeigt eine leichte Tonuszunahme, während Organ B auf Ergobasin keine manifeste Wirkung aufweist. Nach 20 Minuten wird ohne Auswaschen (bei 3) zu A und B wieder Acetylcholin 1 : 50.000.000 zugefügt. Beide Organe reagieren mit gesteigerter

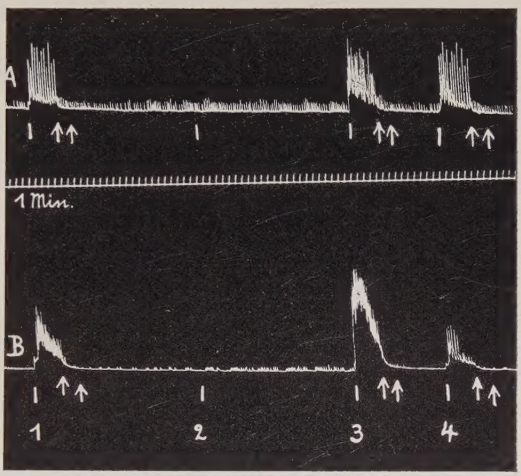

ABB. 2

Versuch an der Meerschweinchen-Samenblase.

1	A, B	Acetylcholin	1 : 20.000.000.
2	A	Ergotamin	1 : 5.000.000.
	B	Physostigmin	1 : 5.000.000.
3 und 4		Acetylcholin	1 : 20.000.000.

Kontraktion, und zwar ist am Organ A die Acetylcholinwirkung um 258 %, am Organ B um 160 % gesteigert. Nach zweimaligem Auswaschen und einer Pause von 26 Min. wird bei 4 die Reaktion auf die gleiche Menge Acetylcholin erneut geprüft. Organ B, das durch Ergobasin sensibilisiert wurde, reagiert wieder praktisch normal, Organ A hingegen, welches mit Ergotamin vorbehandelt war, ist immer noch für Acetylcholin sensibilisiert, und zwar um 200 %. Die Sensibilisierung hält wie die folgenden Versuche bei 5 und 6 zeigen am ergotaminisierten Organ mehr als eine Stunde an.

b) *Versuche an der Samenblase des Meerschweinchens.* In gleicher Weise wie am Kaninchen-Uterus wurde an der Samenblase des Meerschweinchens die Sensibilisierung der Acetylcholinwirkung durch Ergotamin und Ergobasin in Konzentrationen von 1 : 100.000 bis

1 : 50.000.000 geprüft. Nur ausnahmsweise konnte eine deutliche, wenn auch schwache sensibilisierende Wirkung festgestellt werden (Abb. 2, Organ A). Die Acetylcholinwirkung blieb durch Ergotamin und Ergobasin in ihrem Ablauf in der Regel praktisch unbeeinflusst.

Im Versuch der Abb. 2 ruft Acetylcholin 1 : 20.000.000 bei 1 an beiden Organen eine mittelstarke Kontraktion hervor. Nach Ablauf derselben wurde zweimal ausgewaschen und 24 Min. später bei 2 Organ A mit Ergotamin 1 : 5.000.000, das in dieser Konzentration an sich wirkungslos war, und Organ B mit Physostigmin 1 : 5.000.000 versetzt. Nach Ablauf von 26 Min. wird bei 3 beiden Organen wieder Acetylcholin 1 : 20.000.000 verabreicht. Während bei Organ A die Kontraktion nur um 10 % gesteigert ist, zeigt Organ B eine um 60 % gesteigerte Kontraktionshöhe.

2. — *Beeinflussung der Acetylcholinwirkung durch Physostigmin*

a) *Versuche am isolierten Kaninchen-Uterus.* An Uterusstücken von 6 Kaninchen wurde die Grenzkonzentration von Acetylcholin bei 1 : 5.-10.000.000 gefunden. Physostigmin in Konzentrationen von 1 : 1.-20.000.000 löste keine manifeste Wirkung aus. Dagegen erzeugte

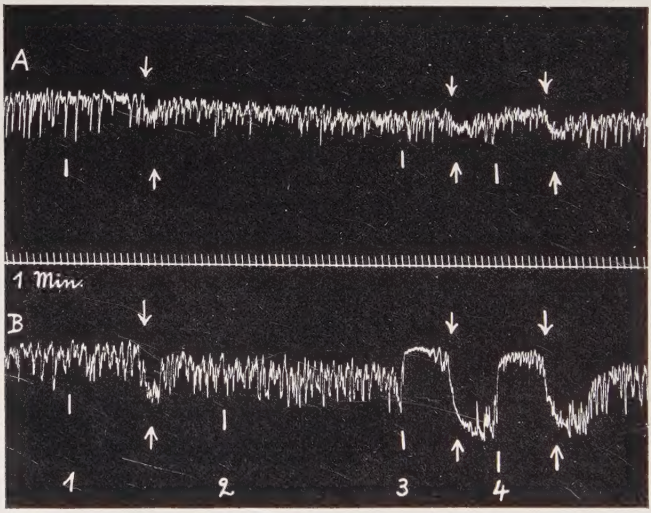

Abb. 3

Versuch am isol. Kaninchen-Uterus.

1 A, B } Acetylcholin 1 : 5.000.000.
2 B Physostigmin 1 : 5.000.000.
3 und 4 Acetylcholin 1 : 5.000.000.

es im Bereich von 1 : 2.-10.000.000 ausgesprochene Sensibilisierung. Sie ist am Uterus virgineller und nicht virgineller Tiere gleich. Auch der Ablauf der sensibilisierten Acetylcholinkontraktion war qualitativ nicht verändert, sondern nur intensiver und entsprechend länger. Die Sensibilisierung durch Physostigmin lässt sich am Uterus durch Auswaschen nicht so rasch aufheben wie an der Samenblase und ist nach einer Stunde und mehr noch nachweisbar. Von 18 Sensibilisierungsversuchen war die Sensibilisierung dreimal nach zweimaligem Auswaschen verschwunden. Der Sensibilisierungsgrad hängt auch nicht von der Zeit der Einwirkung des Physostigmins ab. Eine 20-30 minutige Vorbehandlung hatte denselben Effekt wie der gleichzeitige Zusatz mit Acetylcholin.

Zusatz von Acetylcholin 1 : 5.000.000 (1) in Abb. 3 zu Organ A und B eines virginellen Uterus, die sich in ihrer Tonuslage und in ihrem Rhythmus sehr ähnlich verhalten, ist praktisch wirkungslos. Beide Organe werden ausgewaschen. 20 Min. später wird bei 2 zu Organ B Physostigmin 1 : 5.000.000 zugesetzt. Es tritt keine manifeste Wirkung auf; 27 Min. später wird bei 3 zu beiden Organen erneut Acetylcholin 1 : 5.000.000 zugesetzt. Organ B weist nun starke Kontraktion auf, Kontrollorgan A hingegen reagiert nicht. Das Resultat ist nach 2 maligem Auswaschen noch unverändert.

Acetylcholin 1 : 5.000.000 bewirkt bei 1 in Abb. 4 an Organ A und B keine manifeste Wirkung. Nach zweimaligem Auswaschen wird bei 2 zu Organ A gleichzeitig von Acetylcholin und von Physostigmin 1 : 5.000.000 zugesetzt. Kontrollorgan B hingegen erhält bei 2 nur Acetylcholin 1 : 5.000.000. Letzteres reagiert nicht wie bei 1, während das mit Physostigmin sensibilisierte Organ A eine starke Kontraktion erfährt. 30 Min. später, nach zweimaligem Auswaschen, tritt an Organ A immer noch eine kräftige Kontraktion auf, während dies beim Kontrollorgan B nicht der Fall ist.

b) *Versuche an der isolierten Meerschweinchen-Samenblase.* Der Grenzwert für eine schwache Acetylcholinkontraktion schwankte in den Versuchen an Uteri von 8 Tieren zwischen 1 : 5.-10.000.000. Ein Organ reagierte schon auf 1 : 50.000.000. Physostigmin in einem Konzentrationsbereich von 1 : 200.000 bis 1 : 10.000.000 bewirkte keine manifeste Wirkung, hingegen genügten für eine Sensibilisierung des Acetylcholin Konzentrationen von 1 : 2.-10.000.000 Physostigmin. Die prozentuale Steigerung der Kontraktionshöhe betrug 30 bis 325 %. Der Sensibilisierungseffekt beruht nur in einer stärkeren Kontraktion, die qualitative Wirkungsweise ist nicht verändert. Der Sensibilisierungsgrad hängt nicht von der Zeit der Einwirkung des Physostigmins

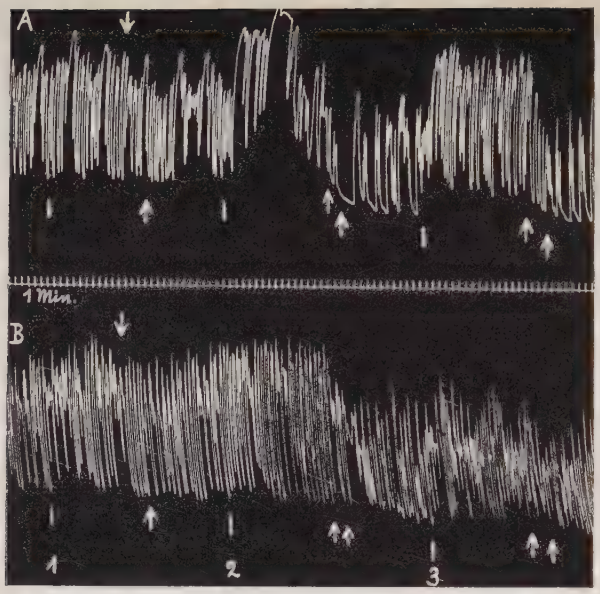

ABB. 4

Versuch am isol. Kaninchen-Uterus.

1 A/B Acetylcholin 1 : 5.000.000.
2 A Physostigmin 1 : 5.000.000.
\+ Acetylcholin 1 : 5.000.000.
2 B Acetylcholin 1 : 5.000.000.
3 A/B Acetylcholin 1 : 5.000.000.

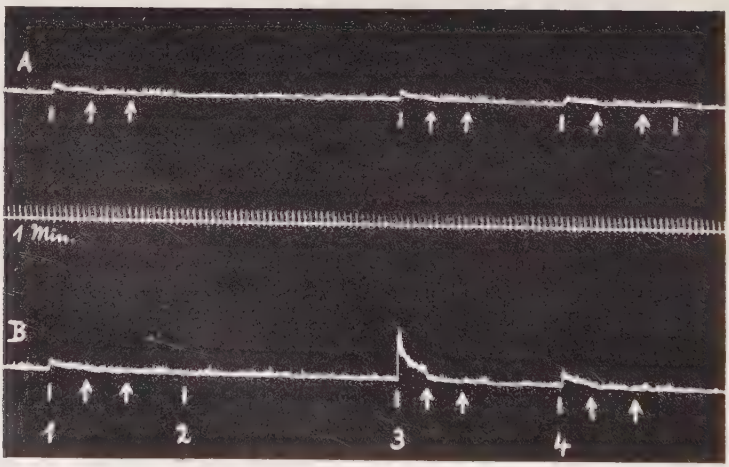

ABB. 5

Versuch an der isol. Meerschweinchen-Samenblase.

1 A/B Acetylcholin 1 : 50.000.000.
2 B Physostigmin 1 : 10.000.000.
3 und 4 Acetylcholin 1 : 50.000.000.

ab. Eine Vorbehandlung von 20-30 Min. hatte denselben Effekt wie der gleichzeitige Zusatz mit Acetylcholin. Ausschlaggebend für den Sensibilisierungseffekt ist somit die Konzentration Physostigmin in der Nährlösung. Dies lässt sich an einem und demselben Organ einwandfrei nachweisen. Die Dauer der Sensibilisierung ist kurz, d.h. die Physostigminwirkung ist rasch reversibel; denn nach zweimaligem Auswaschen zeigt das Organ 30-40 Min. später wieder normale Acetylcholin-Empfindlichkeit. Die Sensibilisierung ist an demselben Organ repetierbar. Zwei Versuche in Abb. 5 und 6 illustrieren das Gesagte.

Organ A und B von Abb. 5 sind sehr empfindlich und reagieren auf die Acetylcholin-Grenzkonzentration von 1 : 50.000.000, bei 1. Nach zweimaligem Auswaschen wird zu Organ B (bei 2) 24 Min. nach der letzten Acetylcholinapplikation Physostigmin 1 : 10.000.000 zugefügt, während Organ A als Kontrolle dient. Beide Organe verhalten sich in den folgenden 36 Min. gleich. Erst eine erneute Applikation der gleichen Acetylcholin-Menge (bei 3) macht die bisher latente Wirkung des Physostigmins an Organ B manifest; denn dieses

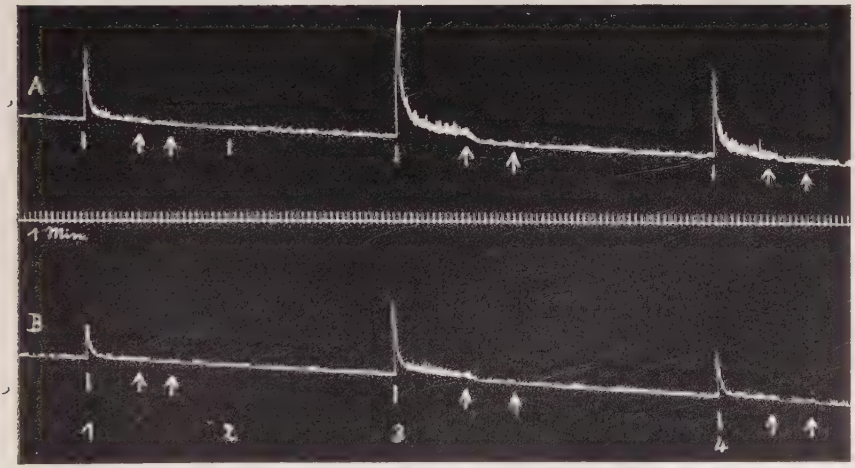

Abb. 6

Versuch an der isol. Meerschweinchen-Samenblase.

1 A, B } Acetylcholin 1 : 5.000.000.
2 A Physostigmin 1 : 5.000.000.
3 A Acetylcholin 1 : 5.000.000.
3 B Physostigmin 1 : 5.000.000.
\+ Acetylcholin 1 : 5.000.000.
4 A, B } Acetylcholin 1 : 5.000.000.

reagiert nun mit um 325 % gesteigerter Kontraktion, während Organ A normal reagiert. Nach einem Intervall von 30 Min. (mit zweimaligem Auswaschen) ist der Sensibilisierungs-Effekt nicht mehr vorhanden.

Die weniger empfindlichen Organe A und B der Abb. 6 reagieren auf Acetylcholin 1 : 5.000.000 mit einer mittleren Kontraktion (bei 1). Organ A und B werden ausgewaschen. 25 Min. später wird zu Organ A (bei 2) Physostigmin 1 : 5.000.000 zugesetzt. Ohne auszuwaschen wird 29 Min. später Acetylcholin 1 : 5.000.000 (bei 3) zugefügt, worauf prompt eine um 63 % gesteigerte Kontraktion erfolgte. Organ B erhält bei 3 Physostigmin und Acetylcholin, beide in Konzentration von 1 : 5.000.000 gleichzeitig. Es erfolgt ebenfalls eine um 100 % gesteigerte Kontraktion. Zweimaliges Auswaschen beider Organe; 56 Min. später ist der Sensibilisierungseffekt (bei 4) nur noch schwach vorhanden. Bei Organ A beträgt er 18 %, bei Organ B noch 13 %.

3. — *Versuche über Beeinflussung der Acetylcholin-Wirkung durch Pilocarpin*

a) *Versuche am isolierten Kaninchen-Uterus.* Pilocarpin übt in Konzentrationen von 1 : 500.000 bis 1 : 10.000.000 in der Regel weder eine latente noch eine manifeste Wirkung auf den Uterus aus. Die Acetylcholinwirkung wird durch Pilocarpin nie sensibilisiert, wohl aber können Pilocarpinkonzentrationen von 1 : 500.000 bis 1 : 2.000.000 dieselbe in reversibler Weise hemmen.

Die Organe A und B (Abb. 7) reagieren auf Acetylcholin 1 : 10.000.000 mit schwacher Kontraktion (bei 1). Nach zweimaligem Auswaschen wird 31 Min. später bei 2 zu Organ A Pilocarpin 1 : 1.000.000, zu Organ B hingegen nur 1 : 10.000.000 gegeben. An beiden Organen ist Pilocarpin ohne Wirkung. 22 Min. später wird bei 3 wieder Acetylcholin 1 : 10.000.000 zugesetzt. Die Wirkung ist an beiden Organen wie bei 1, d.h. normal.

b) *Versuche an der isolierten Meerschweinchen-Samenblase.* An Testorganen von 10 Tieren wurde festgestellt, dass Pilocarpin in Konzentrationen von 1 : 2.500.000 bis 1 : 10.000.000 keine manifeste Wirkung auslöst. In Konzentrationen von 1 : 500.000 bis 1 : 1.000.000 hingegen trat oft eine ganz schwache Kontraktion auf, die von einer leichten Rhythmussteigerung gefolgt war. Die Kontraktion löst sich spontan ohne Auswaschen innerhalb 3 bis 5 Min., die Rhythmussteigerung innerhalb 10 Min.

Der Acetylcholin-Sensibilisierungs-Versuch mit Pilocarpin verläuft nicht nur negativ, sondern Konzentrationen von 1 : 100.000 bis

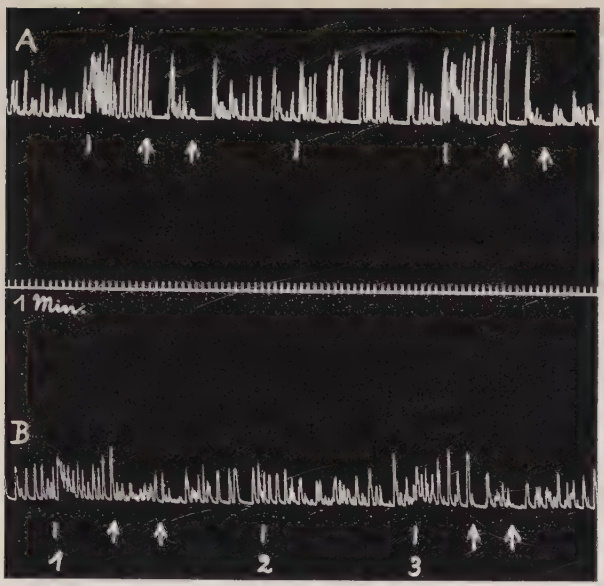

Abb. 7

Versuch am isol. Kaninchen-Uterus.

1 A, B Acetylcholin 1 : 10.000.000.
2 A Pilocarpin 1 : 1.000.000.
B Pilocarpin 1 : 10.000.000.
3 A, B Acetylcholin 1 : 10.000.000.

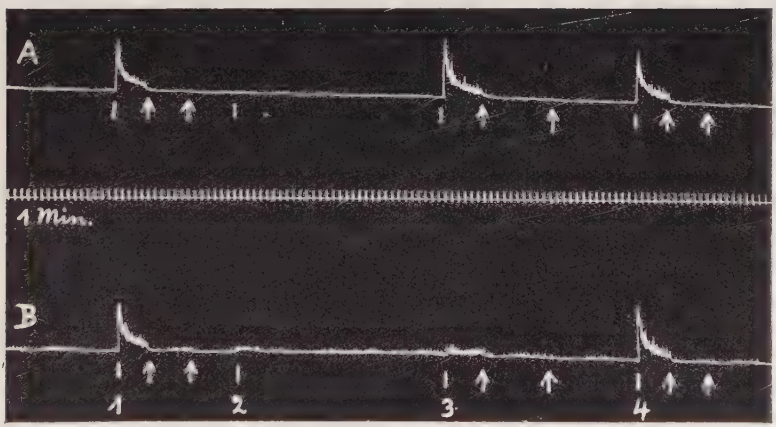

Abb. 8

Versuch an der Meerschweinchen-Samenblase.

1 A, B Acetylcholin 1 : 10.000.000.
2 A Pilocarpin 1 : 40.000.000.
B Pilocarpin 1 : 500.000.
3 und 4 Acetylcholin 1 : 10.000.000.

1 : 5.000.000 *hemmen* die normal fördernde Acetylcholin-Kontraktion an der Samenblase, und zwar geht die Hemmung der Pilocarpinkonzentration proportional. Es ist gleichgültig, ob Acetylcholin sofort nach der Pilocarpin-Verabreichung zugesetzt wird oder 20-30 Min. später. Pilocarpin verhält sich in diesen Konzentrationen somit gegensätzlich zu Physostigmin und unterscheidet sich von Ergotamin und Ergobasin, indem letztere an diesem Testobjekt die Acetylcholin-Wirkung nicht beeinflussen. Während Ergotamin an diesem Testobjekt eine kräftige Adrenalin-Wirkung, wie ROTHLIN (10) gezeigt hat, in minimalen Konzentrationen bis zu 1 : 50.000.000 zu hemmen oder aufzuheben vermag, und Ergobasin die Adrenalin-Wirkung eher sensibilisiert (ROTHLIN, 11), beeinflusst Pilocarpin die Adrenalin-Wirkung weder fördernd noch hemmend.

Die Acetylcholin-Hemmung durch Pilocarpin ist leicht reversibel, und der Versuch an demselben Testorgan repetierbar. Mit Konzentrationen von 1 : 5.000.000 bis 100.000.000 Pilocarpin hingegen wurde in ungefähr der Hälfte der Versuche eine Sensibilisierung der Acetylcholin-Wirkung beobachtet. Sie trat nur an sehr empfindlichen Testorganen auf und betrug nur ausnahmsweise mehr als 50 %.

ABB. 8 illustriert die Pilocarpin-Wirkung an der Samenblase des Meerschweinchens. Beide Organe A und B reagieren bei 1 auf Acetylcholin 1 : 10.000.000 mit einer mittelstarken Kontraktion. Organ A wird bei 2 mit Pilocarpin 1 : 40.000.000, Organ B mit einer solchen von 1 : 500.000 versetzt. Letzteres weist eine minimale Kontraktion auf, die sich spontan löst. Nach 30 Min. werden bei 3 beide Organe mit Acetylcholin 1 : 10.000.000 versetzt. Organ A reagiert etwas stärker als bei 1, von einer eigentlichen Sensibilisierung kann man kaum sprechen. Bei Organ B hingegen ist die Acetylcholin-Wirkung praktisch vollständig gehemmt. Nach zweimaligem Auswaschen löst Acetylcholin (bei 4) wieder die normale Kontraktion aus. Die hemmende Wirkung des Pilocarpins auf die Samenblase ist demnach reversibel.

4. — *Versuche über den Einfluss von Ergotamin, Ergobasin und Physostigmin auf die Acetylcholin-Esterase.*

Die vorstehenden Versuche haben ergeben, dass Ergotamin, Ergobasin und Physostigmin den Kaninchen-Uterus für Acetylcholin sensibilisieren. Physostigmin verursacht im Gegensatz zum Ergotamin und Ergobasin auch an der Samenblase des Meerschweinchens eine Sensibilisierung für Acetylcholin. Vergleicht man die Konzentrationen

der 3 Pharmaka, die für die Sensibilisierung erforderlich sind, so liegen dieselben in der gleichen Grössenordnung. Wie erwähnt, zeigten Loewi und Navratil (4), dass Physostigmin die Acetylcholinesterase zu hemmen vermag. Eine gleiche Wirkung nahmen sie für Ergotamin an, und kürzlich erhob Navratil (12) den gleichen Befund für Ergobasin. Uns schien es wichtig, die cholinesterasehemmende Wirkung von Ergotamin und Ergobasin mit jener von Physostigmin quantitativ zu vergleichen. Dies in Anbetracht der theoretischen Ueberlegung, dass der Wirkungsmechanismus der 3 Pharmaka in vivo auf einer Hemmung der Cholinesterase beruhen könnte, wodurch das vorhandene oder künstlich zugeführte Acetylcholin besser zur Wirkung gelangen würde.

Der Esterasehemmungsversuch gestaltete sich wie folgt: Defibriniertes Katzenblut diente als Esterasespender. Zu 0,5 ccm. frisch bereiteter Lösung von Acetylcholin 1 : 10.000 wurden 0,5 ccm. 0,9 % NaCl und 0,5 ccm. Katzenblut zugesetzt. Nach gutem Umrühren verblieb das Reagenzrohr bis zum Abschluss der Fermentreaktion im Wasserbade bei 38°. Dieses Gemisch wurde dann zur Bestimmung seines Acetylcholingehaltes an der Samenblase des Meerschweinchens verwendet. Dieses Testobjekt wurde gewählt, weil sich seine Empfindlichkeit gegenüber demselben chemischen Reiz über lange Zeit praktisch nicht verändert.

Vorerst wurden folgende Kontrollversuche durchgeführt. Der Zusatz von defibriniertem Katzenblut zum Testobjekt bis zur Konzentration von 1 : 50 war ohne jede Wirkung. Auch die Acetylcholinwirkung wurde dadurch nicht verändert. Es wurde ferner nachgewiesen, dass 10-20 Min. langes Erwärmen des Acetylcholins 1 : 30.000 bei 38° keine Zerstörung zur Folge hat. Sodann wurde die Zeit bestimmt, innerhalb welcher das Acetylcholin in oben erwähntem Ansatz am Testobjekt geprüft nicht mehr nachweisbar war. Es wurde gefunden, dass unter den genannten Versuchsbedingungen die in 0,5 ccm. defibriniertem Katzenblut enthaltene Menge Cholinesterase nach 30 Sek. 20 %, nach 2 Min. 75 % und in allen Versuchen nach 5 Min. die gesamte Acetylcholinmenge zerstört hatte.

In der nachstehenden Tabelle sind die ausgeführten Versuche der Esterasehemmung zusammengefasst. Der Versuch wurde nach obigem Ansatz stets während 5 Minuten durchgeführt, da sich gezeigt hatte, dass im Kontrollversuch innerhalb dieser Zeit das Acetylcholin stets vollständig zerstört war.

Tabelle der Esterase-Hemmungsversuche

Die Konzentration des Acetylcholin betrug in allen Versuchen 1 : 30.000

Konzentration d. Physostigmin	Cholinesterase-Hemmung in %	Konzentration d. Ergotamin	Cholinesterase-Hemmung in %	Konzentration d. Ergobasin	Cholinesterase-Hemmung in %
1 : 30.000	100	1 : 3.000	100	1 : 1.500	42
1 : 30.000	100	1 : 3.000	100	1 : 3.000	100
1 : 30.000	100	1 : 3.000	100	1 : 3.000	67
1 : 30.000	100	1 : 3.000	100	1 : 3.000	0
1 : 30.000	100	1 : 3.000	100	1 : 3.000	0
1 : 300.000	100	1 : 3.000	30	1 : 3.000	0
1 : 300.000	100	1 : 3.000	0	1 : 15.000	0
1 : 3.000.000	100	1 : 7.500	48	1 : 15.000	0
1 : 15.000.000	25	1 : 15.000	100	1 : 30.000	0
1 : 30.000.000	0	1 : 15.000	50	1 : 150.000	0
		1 : 15.000	0		
		1 : 15.000	0		
		1 : 15.000	0		
		1 : 30.000	80		
		1 : 30.000	38		
		1 : 30.000	34		
		1 : 30.000	17		
		1 : 30.000	0		
		1 : 30.000	0		
		1 : 150.000	0		
		1 : 150.000	0		

Aus der Tabelle ergibt sich, dass in Uebereinstimmung mit anderen Autoren das Physostigmin in sehr verdünnter Lösung und regelmässig die Cholinesterase zu hemmen vermag. Bei der Konzentration 1 : 3.000.000 war die Hemmung noch komplett. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei Ergotamin und Ergobasin. Die Hemmung der Cholinesterase ist besonders für Ergobasin unregelmässig, sie war in 5 Versuchen bei der Konzentration von 1 : 3.000 nur einmal vollständig, betrug einmal 67 % und war dreimal negativ. Bei schwächeren Konzentrationen war sie stets negativ. Etwas günstiger lauten die Resultate für Ergotamin. Bei der Konzentration von 1 : 3000 wird die Cholinesterase in 7 Versuchen fünfmal vollständig und einmal zu 30 % gehemmt; 1 Versuch hingegen verlief negativ. Bei 1 : 15.000 liegen die Verhältnisse umgekehrt und mit Ergotamin 1 : 30.000 wird teils mehr oder weniger ausgesprochene Hemmung, teils gar keine erzielt.

Besprechung der Resultate

Die für Physostigmin bekannte Sensibilisierung des Acetylcholin wird an den isolierten Organen des Kaninchen-Uterus und der Meerschweinschen-Samenblase bestätigt. Ganz analog verhalten sich die Mutterkornalkaloide Ergotamin und Ergobasin am Kaninchen-Uterus, nicht aber an der Samenblase, bei welcher eine deutliche Sensibilisierung nicht erhoben werden konnte.

Pilocarpin sensibilisiert deutlich weder am Uterus noch an der Samenblase, hemmt vielmehr in stärkeren Dosen die Acetylcholin-Wirkung, besonders an der Samenblase. Die bestehende Analogie am Kaninchen-Uterus für die 3 Pharmaka Physostigmin, Ergotamin und Ergobasin bezieht sich sowohl auf den Grad und die Dauer der Sensibilisierung als auch auf die dafür notwendige Konzentration. Auch von Ergotamin und von Ergobasin genügen unterschwellige Reize wie für das Physostigmin. Es erhebt sich nun die Frage, ob der Wirkungsmechanismus dieser 3 Pharmaka identisch ist. Physostigmin hat ausgesprochene parasympathikomimetische Reizwirkungen, während Ergotamin typisch sympathikolytisch wirkt, und Ergobasin weder zum einen noch zum anderen vegetativen System ausgesprochene Affinitäten aufweist. Es ist somit a priori nicht anzunehmen, dass die eigentliche Wirkungsweise dieser 3 Pharmaka trotz der phänomenologischen Uebereinstimmung in Hinsicht der Acetylcholin-Sensibilisierung identisch ist. Dafür spricht auch die beobachtete Diskrepanz zwischen der Physostigminwirkung einerseits, der Ergotamin- und Ergobasin-Wirkung an der Samenblase andererseits. Letzteres Organ ist zudem empfindlicher auf Acetylcholin als der Kaninchen-Uterus und trotzdem wird es nur durch Physostigmin sensibilisiert, nicht aber durch Ergotamin und Ergobasin. Dem Ergotamin wie dem Physostigmin werden neben ihrer ausgesprochenen vegetativen und zwar gegensätzlich gerichteten Wirkung ein amphotropes Verhalten zugesprochen. Da es sich aber bei der Acetylcholin-Sensibilisierung um einen typisch parasympathischen Wirkungsmechanismus handelt, kann der amphotrope Wirkungscharakter keine geeignete Klärung bringen.

Nach Loewi und Navratil kommt dem Physostigmin keine direkte oder Eigenwirkung zu, sondern es verstärkt eine vorhandene Erregung. Letztere ist durch Acetylcholin oder Vagusstoff bedingt. Es wird normalerweise durch die überall auftretende Cholinesterase in seiner Wirkung gehemmt. Physostigmin hemmt die Cholinesterase und lässt

dadurch den Acetylcholineffekt in Erscheinung treten bzw. steigert, sensibilisiert dessen Wirkung.

Auch die vorliegenden Resultate am Kaninchen-Uterus und an der Samenblase sprechen für diese Wirkungsweise des Physostigmin. Ergotamin und Ergobasin hingegen verhalten sich in mehrfacher Hinsicht verschieden. Während Physostigmin in den geprüften Konzentrationen bis auf 1 : 1.000.000 resp. 1 : 500.000 am Kaninchen-Uterus keine manifeste Wirkung auslöst, sind Ergotamin und Ergobasin in Dosen von 1 : 5.000.000 bis 1 : 10.000.000 schon oft stark uterustonisierend. Dann wurde zwischen Physostigmin einerseits und Ergotamin und Ergobasin andererseits hinsichtlich der Acetylcholin-Sensibilisierung ein gleiches Verhalten am Kaninchen-Uterus, ein gegensätzliches Verhalten hingegen an der Samenblase nachgewiesen, und schliesslich bestehen wesentliche Unterschiede zwischen Physostigmin einerseits und Ergotamin und Ergobasin andererseits im Verhalten gegenüber der Cholinesterase, indem ersteres prompt und regelmässig in sehr schwachen Dosen, Ergotamin und besonders Ergobasin unregelmässig und nur in sehr viel stärkeren Dosen hemmen; diese betragen mehr als das 100fache des Physostigmin. Vergleichen wir aber damit die pharmakologisch und besonders die therapeutisch notwendigen Dosen dieser 2 Alkaloidgruppen, so ergibt sich, dass sie vielmehr in gleicher Grössenordnung liegen. NAVRATIL (12) hat zwar mit Ergobasin ebenfalls eine regelmässige Cholinesterasehemmung beschrieben, aber seine Versuche sind mit menschlichem Blut und mit der gasanalytischen Methode nach R. AMMON (13) durchgeführt. Aber auch er benötigte Ergobasin-Konzentrationen von 1 : 100.000 bis 1 : 2.000, die im Vergleich zu den von AMMON angegebenen Werten für Physostigmin ausserordentlich stark sind.

In diesem Zusammenhang interessiert die Tatsache, dass die Cholinesterase hemmende Wirkung auch für Pharmaka nachzuweisen ist, denen eine charakteristische parasympathikomimetische Wirkung nicht zugeschrieben werden kann. So fanden F. und M. BERNHEIM (14), dass Morphin und Apomorphin in 10fach stärkerer Konzentration die Wirksamkeit von Physostigmin erreichen, also im Vergleich zu Ergotamin und Ergobasin viel wirksamer sind. Auch Coffein, Chloroform und Chloralhydrat erweisen sich in starken Dosen wirksam. R. AMMON (13) weist nach, dass 0,05 mg. Ergotamin der Cholinesterase-Hemmungswirkung von 0,000005 mg. Physostigmin entspricht, nach ihm ist somit letzteres sogar 10.000 mal wirksamer als Ergotamin. Besonders erwähnenswert ist der Befund nach AMMON, dass Pilocarpin, ein ausgesprochener parasympathischer Reizstoff, 20 mal weniger

cholinesterasehemmend wirkt als Ergotamin und dass Atropin, der Antagonist von Physostigmin und Pilocarpin, zweimal stärker wirkt als letzteres. Diese Versuchsergebnisse über die Cholinesterase-Hemmung zeigen somit eine ausgesprochene Mannigfaltigkeit. Sicher ist, dass Physostigmin von allen bisher untersuchten Substanzen die wirksamste ist und daher diesem Alkaloid in dieser Hinsicht eine Spezifität zukommt. Aber diese Eigenschaft ist soweit die Verhältnisse heute überblickt werden können, kein spezifisches Merkmal für parasympathikomimetische Pharmaka, und es darf aus einer cholinesterasehemmenden Wirkung nicht auf die neuro-vegetative Zugehörigkeit und wahrscheinlich auch nicht auf den Wirkungsmechanismus geschlossen werden.

Unter Berücksichtigung der beschriebenen Verschiedenheiten der pharmakologischen Wirkungsweise von Physostigmin einerseits, von Ergotamin und Ergobasin andererseits, sowie aus dem verschiedenen Verhalten gegenüber der Cholinesterase darf angenommen werden, dass der *Wirkungsmechanismus von Ergotamin und Ergobasin nicht mit jenem des Physostigmin identisch ist.* Unsere experimentellen Resultate sowie die theoretischen Ueberlegungen sprechen vielmehr dafür, *dass die Wirkung von Ergotamin und Ergobasin im Gegensatz zu Physostigmin auf einer Eigenwirkung, einer direkten Erregung der glatten Muskulatur, insbesondere der Uterusmuskulatur beruht.* Dasselbe trifft wohl auch für das Pilocarpin zu, welches sich sowohl in Hinsicht der Acetylcholin-Sensibilisierung als auch der Cholinesterase-Hemmung prinzipiell von Physostigmin unterscheidet.

Schlussfolgerungen

1. Physostigmin sensibilisiert Acetylcholin sowohl am isolierten Kaninchen-Uterus als an der Samenblase des Meerschweinchens.
2. Ergotamin und Ergobasin hingegen haben eine analoge Wirkung nur am isolierten Kaninchen-Uterus, nicht aber an der Samenblase.
3. Ein positiver Sensibilisierungseffekt wird von allen 3 Alkaloiden Physostigmin, Ergotamin und Ergobasin mit unterschwelligen Reizen ausgelöst.
4. Pilocarpin hemmt in starken Dosen die Acetylcholin-Wirkung und sensibilisiert dieselbe in schwachen Dosen, aber nur in sehr geringem Ausmasse. Pilocarpin hat keine typische Acetylcholin sensibilisierende Wirkung.
5. Ergotamin und Ergobasin haben in schwachen Dosen eine

manifeste Wirkung auf den Kaninchen-Uterus, was für Physostigmin nicht zutrifft.

6. Physostigmin hemmt in mehr als 100fach geringerer Dosis als Ergotamin und Ergobasin die Cholinesterase.

7. Der Wirkungsmechanismus von Physostigmin einerseits, Ergotamin und Ergobasin andererseits ist nicht identisch, ersteres wirkt über die Hemmung der Cholinesterase, letztere haben eine direkte Eigenwirkung auf das Erfolgsorgan, speziell auf die Uterusmuskulatur. Ein analoges Verhalten kommt dem Pilocarpin zu.

Herrn Prof. E. ROTHLIN bin ich für die Unterstützung und die Anregungen bei der Ausführung der Arbeit zu Dank verpflichtet.

LITERATURVERZEICHNIS

1. — HARNACK und WITKOWSKY. *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 5, 1876, 401.
2. — FÜHNER. *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, *82*, 1917, 50.
3. — DALE. *Journ. Pharmacol.*, *147*, 1914, 6.
4. — LOEWI und NAVRATIL. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, *214*, 1926, 678 und 689.
5. — ENGELHART und LOEWI. *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, *150*, 1930, 1.
6. — LOEWI. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, *189*, 1921, 239; *Ibid.*, *193*, 1921, 201.
7. — ROTHLIN. *Arch. Int. de Pharmacodyn. et de Thér.*, *27*, 1923, 459.
8. — L. R. MÜLLER. *Lebensnerven und Lebenstriebe* 3. Auflage.
9. — FLEISCH. *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, *94*, 1922, 22.
10. — ROTHLIN. *Klinische Wschr.*, 1925, No. 30, S. 1437.
11. — ROTHLIN. *Schweiz. Med. Wschr.*, 1935, No. 39, S. 947.
12. — NAVRATIL. *Klinische Wschr.*, 1937, No. 2, S. 64.
13. — R. AMMON. *Ergebn. d. Enzymforschung*, IV. Bd., 1935, S. 102.
14. — F. und M. BERNHEIM. *Journ. Pharmacol. a. exp. Therap.*, *57*, 1936, 427.